UNTERSUCHUNGEN ZUR PERCUTANEN RESORPTION VON OXYPHENBUTAZON BEIM MENSCHEN

PETER SCHNEIDER

1965

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität

M ü n c h e n

Direktor: Professor Dr.med. W. S e i t z

UNTERSUCHUNGEN ZUR PERCUTANEN RESORPTION VON OXYPHENBUTAZON BEIM MENSCHEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Peter S c h n e i d e r

aus
München

1 9 6 6

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
M ü n c h e n

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Berichterstatter: Priv.Doz. Dr.med. Hartwig m a t h i e s

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. Walter Se i t z

Dekan: Prof. Dr.med. Fritz H o l l e

Tag der mündlichen Prüfung: 1o. 1o. 1967

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Einführung in die Problematik	Seite	5
Eigene Untersuchungen		9
Versuchsmethodik		9
Versuchssubstanz		1o
Versuchsreihen		11
Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse		18
Beschreibende Statistik		18
Formal-statistische Auswertung		2o
Vergleich der Ergebnisse der statistischen Auswertung		21
Diskussion der Ergebnisse		43
Zusammenfassung		46
Literaturverzeichnis		47

Einführung in die Problematik

In zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre konnten M a t h i e s und Mitarbeiter aufzeigen, daß die Technik des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings eine brauchbare Methodik zum Nachweis des hyaluronidasehemmenden Effekts verschiedener antirheumatisch wirksamer Substanzen darstellt. Mit dieser Technik wurden sowohl an intakten, adrenal- und hypophysektomierten Ratten, denen parenteral Salicylate, Phenylbutazon, Chloraethylbenzmethoxazon, Glucocorticoide, Moor- und Schwefelbäder appliziert wurden, als auch am Menschen bei intramuskulärer Applikation von Phenylbutazon Versuche unternommen, deren Ergebnisse die Wirkungsweise der durch diese Stoffe hervorgerufenen Hyaluronidasehemmung als eine Nebennierenmarksfunktion mit Ausschüttung von Katecholaminen und vermutlicher Freisetzung von Histamin und Heparin demonstrierten (1-8).

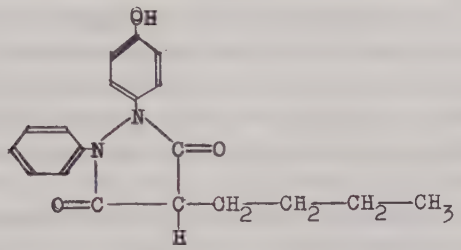
Die nachweisbare Hemmung der durch Hyaluronidase gesteigerten Farbstoffausbreitung im Spreading-Test erlaubt die Möglichkeit einer Aussage über die Resorption hyaluronidasehemmender Substanzen durch die Haut. So konnten M a t h i e s, G a b l e r und L u t z in Tierversuchen die percutane Resorption von Salicylsäure nach Salben- und Badeapplikation mitteilen (9,1o). Die hyaluronidasehemmende Wirkung der Pyrazolidine (8,2o,21) lenkte das Interesse auf Untersuchungen über eine mögliche Resorption von Phenylbutazon und seinen Derivaten bei Salbenapplikation durch die Haut von Ratten und des Menschen. Um eine Allgemeinwirkung der Salbenapplikation zu objektivieren und den Einfluß einer möglichen intracutanen Wirkstoffausbreitung auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading auszuschließen, erforderte die Versuchsanordnung, die Salbe

an räumlich von der Meßstelle deutlich abgelegenen Hautpartien aufzutragen; die Rattenversuche ermöglichten zusätzlich die operative Trennung der Brusthaut als Applikationsort von der Bauchhaut als Meß-Stelle.

Entsprechende Untersuchungen von M a t h i e s (11) an Ratten, denen 75 mg Phenylbutazon/kg Tiergewicht einer 5%igen Butazolidin-Salbe und zur Kontrolle 15 g/kg Salbengrundlage ohne Wirkstoff cutan appliziert wurden, ergaben eine deutliche Hemmung des durch Hyaluronidase gesteigerten Farbstoff-Spreadings durch Phenylbutazon und bewiesen damit dessen Resorption durch die Haut. Vergleichsversuche mit intraperitonealer Applikation von Phenylbutazon (11) zeigten in einer Dosierung von 1oo mg/kg Tiergewicht eine deutlich ausgeprägte, von 75 mg/kg und 5o mg/kg eine mäßige, und von 1o mg/kg keine sichere Hyaluronidasehemmung mehr. Am Menschen (11) konnte die einmalige Gabe von 1,66 mg Wirksubstanz/kg Körpergewicht der 5%igen Butazolidin-Salbe keine statistisch signifikante Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erbringen. Selbst bei Annahme einer vollständigen Resorption ließ jedoch diese Dosierung wegen ihrer außerordentlichen Geringfügigkeit keine Allgemeinwirkung erwarten, wenn man die bei i.p.Applikation ermittelte, geringste noch wirksame Dosis, die zwischen 1o und 5o mg/kg Tiergewicht lag, als -freilich nicht unbedingt zulässige- Richtdosis auf den Menschen übertragen wollte. In Untersuchungen mit höheren Dosen einer 2o%igen Butazolidin-Salbe und einer 5%igen in verschiedenen Zubereitungsformen gelang es M a t h i e s und B r u s i s (11,12), die percutane Resorption von Phenylbutazon beim Menschen nachzuweisen. Dabei wurde durch Hautapplikation der 2o%igen Butazolidin-Salbe in einer Dosis von 8o mg Wirksubstanz/kg Körpergewicht eine starke Hyaluronidasehemmung erreicht. Die verschiedenen 5%igen Butazolidin-Salben, appliziert in einer Dosierung von 2o mg Phenylbutazon/kg, ergaben eine etwas geringere Hyaluronidasehemmung und unterschieden sich untereinander weniger im Ausmaß ihrer statistisch gesicherten Hemmwirkung als im Auftreten ihrer

maximalen Hemmwerte zu verschiedenen Zeitpunkten.

Unter den Abkömmlingen des Phenylbutazons verdient das Oxyphenbutazon (1-Phenyl-2-p-Hydroxyphenyl-3,5-dioxo-4-n-butylpyrazolidin = p-Hydroxyphenylbutazon; Tanderil®) mit nachstehender Konstitutionsformel ein besonderes Interesse.



Als Derivat und Metabolit von Phenylbutazon (13-15) mit einer biologischen Halbwertszeit von 48-72 Stunden beim Menschen wird Oxyphenbutazon an Serumproteine, am stärksten an Albumin, gebunden (16). Im Gegensatz zu Phenylbutazon zeigt es im Tierexperiment keinen sicheren zentral analgetischen Effekt, während die antiphlogistische Wirkung auf die chronisch-proliferative Entzündung, geprüft im Granulombeutel-Test der Ratte, und auf die akute Entzündung, geprüft am Formalinödem und der Formalin-Peritonitis der Ratte, stärker ist als die von Phenylbutazon (17). In der "antirheumatischen" Wirkung werden beide Substanzen als etwa gleichwertig bezeichnet (18,19); Oxyphenbutazon führte jedoch zu weniger Nebenerscheinungen als Butazolidin (17,18).

Im Hinblick auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Oxyphenbutazons konnten M a t h i e s und S c h o l z e (2o-22) in Rattenversuchen feststellen, daß es nach i.p. Applikation von 5o mg/kg zu einer statistisch gesicherten deutlichen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test kommt. In dieser Dosierung beträgt die 6o Minuten post applicationem bestimmte maximale Hyaluronidasehemmung von Oxyphenbutazon 27,5%, während 1oo mg

und 75 mg Phenylbutazon/kg i.p. bzw. 2oo mg Phenylbutazon/kg s.c. eine zum gleichen Zeitpunkt auftretende, vergleichbare maximale Hyaluronidasehemmung von nur 2o,1 % und 15,8 % (11,2o,21) bzw.24,8 % (3) aufweisen.

Entsprechende Untersuchungen am Menschen mit anderer Dosierung und Applikationsart des Oxyphenbutazons lagen bisher noch nicht vor. Es soll somit Aufgabe dieser Arbeit sein, anhand der auf Seite 9 ausführlich beschriebenen Versuchsmethodik das Oxyphenbutazon, appliziert in Form der Tanderil®-Crème, auf seine mögliche percutane Resorption beim Menschen hin zu prüfen und Aussagen über das Verhältnis der Hautresorption zwischen Phenylbutazon und Oxyphenbutazon zu diskutieren.

Eigene Untersuchungen

Versuchsmethodik

Als Grundlage der experimentellen Untersuchungen, die an männlichen Versuchspersonen im Alter von 18-3o Jahren mit einem durchschnittlichen Körpergewicht um 75 kg durchgeführt wurden, diente die meßbare Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Test.

Vor und zu bestimmten Zeitpunkten nach Applikation der Prüfsubstanz wurde den liegenden Probanden je eine Farbstoff- und eine Farbstoffhyaluronidase-Quaddel streng intracutan in die Bauchhaut beiderseits und unterhalb des Nabels gesetzt. Anhand von Tuberkulin-Spritzen mit sehr dünnen Kanülen erfolgte dazu für die Farbstoff-Quaddel die Injektion von o,1 ml einer 1%igen Patentblau VF-Lösung in physiologischer NaCl-Lösung; zum Setzen der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel diente die Injektion von ebenfalls o,1 ml der gleichen Farbstofflösung, in der jedoch 75 I.E. einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase (Kinetin ®) pro 1 ml gelöst waren. Die nach 1o Minuten erreichte Farbstoffausbreitung wurde durch Übertragung der Begrenzung der Quaddelkonturen auf eine Zellophan-Folie und anschliessende planimetrische Ausmessung ermittelt.

In vier verschiedenen Versuchsreihen wurden jeweils 5 Versuchspersonen einer Reihe unterschiedliche Dosen einer Oxyphenbutazon-Crème auf die Haut der Brust, des seitlichen Thorax und der Extremitätenstreckseiten aufgetragen. In einer fünften Versuchsreihe sollte die Applikation von Salbengrundlage ohne Wirksubstanz als Kontrolluntersuchung erfolgen.

Alle Versuchsreihen hatten die gleiche Versuchsanordnung: Das arithmetische Mittel eines doppelten Farbstoff-Farb-

stoffhyaluronidase-Quaddelpaares, das gemäß der oben beschriebenen Technik und Lokalisation vor Auftragung der Prüfsubstanz gesetzt wurde, bestimmte den jeweiligen Leerwert der Farbstoffausbreitung. Dieser galt als Bezugsgröße für das Maß des Farbstoffspreadings in jedem der Farbstoff-Farbstoffhyaluronidase-Quaddelpaare, die zu den Zeitpunkten 3o, 5o, 7o, 9o, 11o, 13o, 15o, 17o und 19o Minuten nach Applikation der Oxyphenbutazon-Crème gesetzt wurden. Eine zu diesen Zeitpunkten p.a. auftretende Abnahme der Farbstoffausbreitung in den Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln ließ die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die Versuchssubstanz beurteilen. Diese Hemmung wurde durch das Verhalten des Farbstoffspreadings in den Farbstoff-Quaddeln ohne Hyaluronidasezusatz kontrolliert.

Um mögliche Lokalisationseinflüsse auszuschalten, wurde die Anordnung der Quaddelpaare im Meßbereich beiderseits und unterhalb des Nabels von Proband zu Proband gewechselt. Eine Quaddel, die nicht streng intracutan lokalisiert erschien, wurde sofort durch eine neue in unmittelbarer Nachbarschaft ersetzt.

Versuchssubstanz

Zur Hautapplikation des Oxyphenbutazons diente als Versuchspräparat eine 5%ige Tanderil® - Crème mit der Versuchsbezeichnung R 2273. Die Wirksubstanz ist in einer Öl-in-Wasser-Emulsions-Salbengrundlage verteilt. Im Placeboversuch wurde diese Salbengrundlage ohne Wirksubstanz verwendet (Placebo-Crème).

Versuchsreihen

Versuchsreihe 1

In der 1.Versuchsreihe wurden 3o g der 5%igen Tanderil-Crème auf der Haut der Brust, des seitlichen Thorax und der Extremitätenstreckseiten von je 5 Versuchspersonen verteilt. Die cutan applizierte Wirkstoffmenge betrug also1500 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson, was bei einem durchschnittlichen Körpergewicht der Versuchspersonen von 75 kg 2o mg Oxyphenbutazon/kg ergab. Entsprechend der vorher beschriebenen Methodik wurde zu den in der Versuchsanordnung angegebenen Zeitpunkten je ein Quaddelpaar gesetzt. Die Zahlen der in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse bezeichnen in mm^2 die planimetrierte Fläche der Farbstoffausbreitung.

Versuchsreihe 2

An 5 Probanden der 2.Versuchsreihe wurden jeweils 15 g der 5%igen Tanderil-Crème auf die oben angegebenen Hautpartien aufgetragen. Zur Wirkung kamen folglich 75o mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson, bei einem durchschnittlichen Probandengewicht von ebenfalls 75 kg entsprechend 1o mg/kg Körpergewicht. Die Farbstoffausbreitung der Quaddelpaare wurde zu den selben Zeiten wie in Versuchsreihe 1 bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 eingetragen.

Versuchsreihe 3

Bei gleicher Versuchsanordnung und gleichen Meßzeiten wie vorher erfolgte in dieser Reihe bei je 5 Versuchspersonen die Hautapplikation von 1o g der 5%igen Tanderil-Crème. Diese Menge entsprach 5oo mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson bzw. 6,66 mg/kg beim durchschnittlichen Probandengewicht von 75 kg. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

Versuchsreihe 4

In der 4.Versuchsreihe kamen bei gleicher Versuchsanordnung und Probandenzahl 7,5 g der 5%igen Tanderil-Crème zur Anwendung. Damit waren 375 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson bzw. 5 mg/kg Körpergewicht wirksam. Die Bestimmungszeiten entsprachen denen aller bisherigen Versuchsreihen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Versuchsreihe 5

Als Kontrolluntersuchung diente in dieser Reihe ein Placebo-Versuch an 5 Versuchspersonen, denen 30 g Salbengrundlage ohne Wirksubstanz appliziert wurden. Auch hier galten die gleiche Versuchsanordnung und die selben Meßzeiten wie in allen vorausgegangenen Versuchsreihen. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 5.

Zeichenerklärung zu den Tabellen 1-5

F = Abkürzung für die reine Farbstoff-Quaddel

FH = Abkürzung für die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel

L = Abkürzung für Leer-Quaddel

Zeit = Zeit in Minuten nach Applikation der Versuchssubstanz.

Tabelle 1 (Versuchsreihe 1)

(gemessene Einzelwerte in mm^2)

Versuchs-person	I		II		III		IV		V	
Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
1.	43	58	5o	93	42	83	45	65	52	73
3o'	44	48	46	58	44	77	45	56	48	59
5o'	45	48	43	61	41	62	41	55	41	51
7o'	41	41	38	48	42	61	42	53	45	6o
9o'	33	38	36	39	43	58	46	48	41	54
11o'	3o	37	38	45	42	51	43	51	42	53
13o'	31	36	42	52	41	59	42	51	49	67
15o'	48	5o	46	56	42	74	4o	59	58	69
17o'	39	41	45	63	44	8o	5o	64	6o	78
19o'	38	4o	48	61	4o	91	53	8o	6o	87

Tabelle 2 (Versuchsreihe 2)

(gemessene Einzelwerte in mm^2)

Versuchs-person	I		II		III		IV		V	
Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
L	44	54	53	1o8	51	98	45	68	46	72
3o'	39	59	46	93	51	95	46	55	47	57
5o'	39	61	42	91	55	85	44	5o	45	51
7o'	34	55	45	88	43	77	41	45	47	52
9o'	33	47	34	7o	51	77	42	45	49	59
11o'	39	54	39	68	46	88	4o	52	45	55
13o'	41	65	42	7o	46	88	41	61	47	55
15o'	45	63	51	92	5o	82	44	6o	48	56
17o'	45	64	54	1o8	52	1o1	42	54	43	69
19o'	52	72	53	1o9	53	1o2	43	62	57	63

Tabelle 3 (Versuchsreihe 3)

(gemessene Einzelwerte in mm^2)

Versuchsperson	I		II		III		IV		V	
Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
1	49	66	5o	61	41	66	5o	71	46	73
3o'	5o	58	48	56	38	52	48	68	5o	68
5o'	49	57	46	52	39	52	53	57	46	55
7o'	5o	55	47	51	42	55	48	63	49	6o
9o'	5o	53	53	5o	45	49	5o	57	42	55
11o'	46	56	45	51	46	53	48	62	5o	59
13o'	46	57	49	57	43	54	48	57	45	64
15o'	47	5o	47	56	39	63	47	51	5o	68
17o'	5o	56	49	64	42	66	5o	65	5o	63
19o'	56	68	54	74	43	63	54	75	46	7o

Tabelle 4 (Versuchsreihe 4)

(gemessene Einzelwerte in mm^2)

Versuchs-person	I		II		III		IV		V	
Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
L	55	74	56	66	49	61	47	55	49	62
3o'	53	73	49	65	45	58	49	54	45	63
5o'	52	61	5o	59	48	56	44	52	48	61
7o'	52	57	54	62	48	59	45	59	5o	68
9o'	39	55	53	6o	49	57	41	55	44	58
11o'	43	58	51	61	49	64	41	55	42	54
13o'	48	56	52	67	55	68	47	49	51	54
15o'	41	67	5o	68	48	62	47	52	47	62
17o'	44	68	49	85	47	66	44	52	5o	66
19o'	45	77	48	75	45	7o	46	59	49	63

Tabelle 5 (Versuchsreihe 5)

(gemessene Einzelwerte in mm^2)

Versuchsperson	I		II		III		IV		V	
Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
L	52	67	44	56	54	66	47	54	48	6o
3o'	48	65	44	55	52	61	47	57	48	58
5o'	53	66	46	54	55	67	47	52	46	58
7o'	57	65	47	52	57	7o	46	54	5o	58
9o'	55	72	51	55	6o	74	46	55	5o	59
11o'	49	71	49	64	57	62	49	55	49	58
13o'	54	75	49	66	58	63	49	55	46	56
15o'	55	68	49	61	56	65	46	57	5o	6o
17o'	57	7o	51	57	55	71	46	54	49	59
19o'	59	77	5o	6o	54	65	47	54	46	59

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Beschreibende Statistik

Entsprechend jeder Versuchsreihe, sind in den Tabellen 6-1o für jeden Zeitpunkt der Beobachtung sowohl für die reine Farbstoff- als auch die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel das beobachtete arithmetische Mittel ($\bar{x}$), die daraus errechnete mittlere Abweichung gegenüber der Leerquaddel ($\bar{a}$), die Streuung dieser mittleren Abweichungen ($s_{\bar{a}}$) und die kleinste mittlere Abweichung von den Leer-Quaddeln ($d_{\bar{a}}$), die auf dem 5%-Test-Niveau als formal-statistisch gesichert gelten kann, angegeben. In der Tabelle 11 sind die Mittelwerte der innerhalb des Beobachtungszeitraums von 3o-19o Minuten auftretenden mittleren Abweichungen ($\bar{a}$) beider Quaddeltypen gegenüber der entsprechenden Leer-Quaddel eingetragen.

Die ausgezogenen Linien in den Abbildungen 1-5 stellen die mittleren Abweichungen von den jeweiligen Leer-Quaddeln in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Beobachtung dar. Diese Kurvenverläufe wurden in jedem Falle durch ein quadratisches Polynom approximiert; der Ausdruck eines quadratischen Polynoms bezeichnet eine Parabel, deren Funktion durch die Formel $y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$ dargestellt wird. Die Approximationswerte wurden für jeden Beobachtungszeitpunkt nach den Lorentz-Orthogonalpolynomen (23) berechnet und sind in der Tabelle 13 zusammengefaßt; der Verlauf dieser Approximationen ist in den Abbildungen durch gestrichelte Kurven eingezeichnet. Durch die formal-statistische Auswertung wird bestätigt, daß die Anpassung dieser quadratischen Polynome an die tatsächlich beobachteten Kurvenverläufe in jedem Falle als gut zu bezeichnen ist. (Siehe Seite 21).

Aus den Tabellen 6-11 geht hervor, daß hinsichtlich des Verhaltens der reinen Farbstoff-Quaddeln eine statistisch signifikante Beeinflussung der Farbstoffausbreitung durch

die Oxyphenbutazon-Crème unter Berücksichtigung der formal-statistischen Analyse nur in den Dosierungen von 750 mg und 1500 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson vorliegt. Hier tritt eine einheitliche, zeitabhängige schwache Hemmung des Spreadings der reinen Farbstoff-Quaddeln auf.

Bezüglich des Verhaltens der Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln hat die Applikation von Salbengrundlage ohne Wirksubstanz (Placebo-Crème) praktisch keinen Einfluß auf die Farbstoffausbreitung dieses Quaddeltyps. Dagegen zeigt die Oxyphenbutazon-Crème eine deutliche, von der Dosierung abhängige Zunahme der Hemmung des Spreadings bei den Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln.

Auf der Grundlage der Approximation der beobachteten Kurvenverläufe durch quadratische Polynome wurden für jede Versuchsreihe der Zeitpunkt der maximalen Hemmung der Farbstoffausbreitung in den Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln und die Größe dieser Hemmung errechnet. Diese Zeitpunkte (tmax) und die zu diesen Zeitpunkten jeweils vorliegende maximale Hemmung (Hmax) sind in der Tabelle 12 zusammengestellt.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß die Zeitpunkte der maximalen Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings praktisch kaum von den entsprechenden Dosierungen abhängen, während die Größe der zu diesen Zeitpunkten erzielten maximalen Hemmungen dagegen eindeutig dosisabhängig ist. Diese Approximationswerte bestätigen also das synchrone Auftreten der maximalen Hemmwerte der Farbstoffausbreitung in den Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln aller Dosierungen zum Bestimmungszeitpunkt 90 Min.p.a., wie es in den realen Kurvenverläufen beobachtet wurde; die Größe der maximalen Hemmwerte bei den Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln entspricht nur der Abhängigkeit von den jeweiligen Dosierungsverhältnissen. Das wurde in nachfolgender Berechnung verifiziert.

Als ein Maß für die Zeit-Wirkungs-Relation der geprüften Substanz kann man die Fläche zwischen der beobachteten Kurve und der Null-Linie (Abzisse) des Koordinatensystems betrachten.

Unter Verwendung der quadratischen Approximationen wurde diese Fläche für den Beobachtungszeitraum von 3o-19o Min. errechnet. Die Größen dieser Flächen bzw. ihrer zeitlichen Mittelwerte in Abhängigkeit von den verschiedenen Dosierungen sind in der Abbildung 6 dargestellt. Aus dieser Abbildung geht hervor, daß zwischen diesen Flächen und dem Logarithmus der Dosierung eine praktisch lineare Relation besteht. Daraus läßt sich sehr eindrucksvoll die Dosisabhängigkeit der beobachteten Hemmwirkungen ablesen.

Formal-statistische Auswertung

Die formal-statistische Auswertung der Versuchsergebnisse wurde auf der Grundlage von mehrfachen Varianz-Analysen durchgeführt. In den Tabellen 14-18 sind diese Varianzanalysen zusammengestellt.

Es wurde zunächst in jeder Versuchsreihe getrennt für die reine Farbstoff- bzw. die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel geprüft, ob eine zeitabhängige Veränderung der Farbstoffausbreitung gegenüber den Leer-Quaddeln vofliegt. Als Testgröße diente der Varianz-Quotient F_{emp} zwischen der Varianz-Komponente "zwischen Zeiten" und der Varianz-Komponente "Rest-Varianz" . Die Ergebnisse dieser Prüfung zeigen, daß für die reine Farbstoff-Quaddel eine zeitabhängige Veränderung nur in den Dosierungen von 75o und 15oo mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson auftritt. Für die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel ergeben sich zeitabhängige Veränderungen in allen Versuchsreihen mit Ausnahme der Placebo-Crème (Versuchsreihe 5).

Anhand einer dreifachen Varianzanalyse wurde als nächste Frage geprüft, inwieweit sich der zeitliche Verlauf der Effekte bei der reinen Farbstoff-Quaddel von demjenigen der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel unterscheidet. Die Prüfgröße dazu war der Varianz-Quotient F_{emp} zwischen der Varianz-Kompo-

nente "Typen x Zeiten" und der Varianzkomponente "Rest-Varianz". Aus den Resultaten ergibt sich, daß ein Unterschied im zeitlichen Ablauf des Verhaltens der beiden Quaddeltypen nur im Placebo-Versuch nicht auftritt; in allen anderen Versuchsreihen unterscheidet sich der zeitliche Ablauf der beobachteten Wirkungen zwischen den beiden Quaddeltypen.

Schließlich wurde untersucht, zu welchen Zeitpunkten speziell für die Farbstoff- bzw. Farbstoffhyaluronidase-Quaddel eine formal-statistisch gesicherte Abweichung gegenüber den Leer-Quaddeln vorlag. Hierzu wurde nach T u k e y (24) die kleinste Abweichung $d_{\bar{a}}$ gegenüber den Leerwerten berechnet, die auf dem 5%-Test-Niveau als realer Effekt betrachtet werden kann.

Um zu einer beschreibenden Daten-Analyse der zeitlichen Verläufe zu gelangen, wurden die realen Kurvenverläufe durch quadratische Polynome approximiert. Aus den Varianz-Analysen resultiert die Güte dieser Approximation formal aus der Größe des Varianzquotienten zwischen der Varianz-Komponente "Rest-Abweichung" und der Varianz-Komponente "Rest-Varianz". Es zeigt sich, daß die Approximation durch ein quadratisches Polynom innerhalb des Beobachtungszeitraums gerechtfertigt ist.

Vergleich der Ergebnisse der statistischen Auswertung

In der Dosierung von 1500 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson (Versuchsreihe 1) wird sowohl die Farbstoffausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel als auch die der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel statistisch signifikant gehemmt. Es besteht jedoch ein statistisch gesicherter Unterschied in der Größe dieser Hemmungen zwischen beiden Quaddeltypen. Das Maximum der Hemmung beträgt für die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel $-27{,}0\ mm^2$ und tritt zum Zeitpunkt 90 Min.p.a. auf.

Zum gleichen Zeitpunkt wird das Maximum der Hemmung von $-20{,}4\ mm^2$ bei der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel in der Dosierung von 750 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson erreicht (Versuchsreihe 2). Auch hier wird das Spreading der reinen

Farbstoff-Quaddel statistisch faßbar gehemmt; beide Quaddel-Typen unterscheiden sich aber hinsichtlich der Größe ihrer Hemmungen in statistisch gesicherter Weise.

In den Dosierungen von 500 mg (Versuchsreihe 3) und 375 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson (Versuchsreihe 4) liegt für das Spreading der reinen Farbstoff-Quaddel keine statistisch faßbare Beeinflussung vor. Das Verhalten der Farbstoff-hyaluronidase-Quaddel zeigt in beiden Reihen statistisch signifikante Hemmungen; ihre ebenfalls zum Zeitpunkt 90 Min.p.a. auftretenden Maximalwerte betragen $-14{,}6\ mm^2$ bzw. $-6{,}8\ mm^2$.

Bei der Placebo-Crème (Versuchsreihe 5) zeigt weder die reine Farbstoff- noch die Farbstoffhyaluronidase-Quaddel eine statistisch faßbare Änderung in ihrer Farbstoffausbreitung. Eine Wirkung der Salbengrundlage auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading kann dadurch ausgeschlossen werden.

Obwohl einzelne Werte der mittleren Abweichung ($\bar{a}$) der reinen Farbstoff-Quaddel, die in den Versuchsreihen 4 und 5 (Tabellen 9-10) über der kleinsten mittleren, statistisch gesicherten Abweichung ($d_{\bar{a}}$) liegen, eine Beeinflussung des Spreadings dieses Quaddeltyps vermuten lassen könnten, erweisen sie sich unter Berücksichtigung der Varianzanalysen (Tabellen 17-18) und des gesamten zeitlichen Verlaufs der mittleren Abweichungen (Tabelle 11) doch als Zufallseffekte. Ebenso wird die Aussage, daß das Spreading der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel in einer Dosierung von 375 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson noch gehemmt wird, durch die formale Analyse (Tabelle 17) statistisch gesichert, wenn auch keine der mittleren Abweichungen ($\bar{a}$) dieses Quaddeltyps über der kleinsten mittleren, statistisch gesicherten Abweichung ($d_{\bar{a}}$) liegt (Tabelle 9 und 11). Somit sind die Angaben, die oben für die Versuchsreihen 4 und 5 gemacht wurden, zurecht gültig.

Aus dem Vergleich der statistisch ausgewerteten Versuchsreihen läßt sich also zusammenfassend sagen, daß die Hemmung des Spreadings bei der Farbstoffhyaluronidase-Quaddel in praktisch linearer Relation mit der steigenden Dosierung des

Oxyphenbutazons zunimmt. Die Farbstoffausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel wird nur in den Dosierungen von 1500 mg und 750 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson statistisch faßbar gehemmt. Die Salbengrundlage zeigt keine statistisch gültige Veränderung im Spreading beider Quaddel-Typen.

Zeichenerklärung zu den Tabellen 6-18

F = reine Farbstoff-Quaddel

FH = Farbstoffhyaluronidase-Quaddel

L = Leer-Quaddel

Zeit = Zeit nach Applikation der Versuchssubstanz in Min.

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel der Quaddeln in mm^2

$s_{\bar{a}}$ = Streuung der mittleren Abweichungen

$\bar{a}$ = mittlere Abweichung der Quaddeln gegenüber der Leer-Quaddel in mm^2

$d_{\bar{a}}$ = kleinste mittlere Abweichung von der Leer-Quaddel in mm^2

t_{max} = Zeitpunkt der maximalen Hemmung in Min.

H_{max} = maximale Hemmung in mm^2

n = Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente

SAQ = Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente

MAQ = Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente

F_{emp} = Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der "Rest-Varianz"

p = Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten F_{emp} in der zugehörigen F-Prüfverteilung

Tabelle 6 (Versuchsreihe 1)

Farbstoff-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	46,4	-	-	-
3o	45,4	-1,o	2,o6	6,o7
5o	42,2	-4,2	2,o6	6,o7
7o	41,6	-4,8	2,o6	6,o7
9o	39,8	-6,6	2,o6	6,o7
11o	39,o	-7,4	2,o6	6,o7
13o	41,o	-5,4	2,o6	6,o7
15o	46,8	o,4	2,o6	6,o7
17o	47,6	1,2	2,o6	6,o7
19o	47,8	1,4	2,o6	6,o7

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	74,4	-	-	-
3o	59,6	-14,8	2,99	8,83
5o	55,4	-19,o	2,99	8,83
7o	52,6	-21,8	2,99	8,83
9o	47,4	-27,o	2,99	8,83
11o	48,6	-25,8	2,99	8,83
13o	53,o	-21,4	2,99	8,83
15o	61,6	-12,8	2,99	8,83
17o	65,2	- 9,2	2,99	8,83
19o	71,8	- 2,6	2,99	8,83

Tabelle 7 (Versuchsreihe 2)

Farbstoff-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	47,8	-	-	-
3o	45,8	-2,o	1,71	5,o6
5o	45,o	-2,8	1,71	5,o6
7o	42,o	-5,8	1,71	5,o6
9o	41,8	-6,o	1,71	5,o6
11o	41,8	-6,o	1,71	5,o6
13o	43,4	-4,4	1,71	5,o6
15o	47,6	-o,2	1,71	5,o6
17o	47,2	-o,6	1,71	5,o6
19o	51,6	3,8	1,71	5,o6

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	8o,o	-	-	-
3o	71,8	- 8,2	3,o8	9,o9
5o	67,6	-12,4	3,o8	9,o9
7o	63,4	-16,6	3,o8	9,o9
9o	59,6	-2o,4	3,o8	9,o9
11o	63,4	-16,6	3,o8	9,o9
13o	67,8	-12,2	3,o8	9,o9
15o	7o,6	- 9,4	3,o8	9,o9
17o	79,2	- o,8	3,o8	9,o9
19o	81,6	1,6	3,o8	9,o9

Tabelle 8 (Versuchsreihe 3)

Farbstoff-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	47,2	-	-	-
3o	46,8	-o,4	1,24	3,66
5o	46,6	-o,6	1,24	3,66
7o	47,2	o,o	1,24	3,66
9o	48,o	o,8	1,24	3,66
11o	47,o	-o,2	1,24	3,66
13o	46,2	-1,o	1,24	3,66
15o	46,o	-1,2	1,24	3,66
17o	48,2	1,o	1,24	3,66
19o	5o,6	3,4	1,24	3,66

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	67,4	-	-	-
3o	6o,4	- 7,o	1,9o	5,6o
5o	54,6	-12,8	1,9o	5,6o
7o	56,8	-1o,6	1,9o	5,6o
9o	52,8	-14,6	1,9o	5,6o
11o	56,2	-11,2	1,9o	5,6o
13o	57,8	- 9,6	1,9o	5,6o
15o	57,6	- 9,8	1,9o	5,6o
17o	62,8	- 4,6	1,9o	5,6o
19o	7o,o	2,6	1,9o	5,6o

Tabelle 9 (Versuchsreihe 4)

Farbstoff-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	51,2	-	-	-
3o	48,2	-3,o	1,38	4,o7
5o	48,4	-2,8	1,38	4,o7
7o	49,8	-1,4	1,38	4,o7
9o	45,2	-6,o	1,38	4,o7
11o	45,2	-6,o	1,38	4,o7
13o	5o,6	-o,6	1,38	4,o7
15o	46,6	-4,6	1,38	4,o7
17o	46,8	-4,4	1,38	4,o7
19o	46,6	-4,6	1,38	4,o7

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	63,8	-	-	-
3o	62,6	-1,2	2,32	6,84
5o	57,8	-6,o	2,32	6,84
7o	61,o	-2,8	2,32	6,84
9o	57,o	-6,8	2,32	6,84
11o	58,4	-5,4	2,32	6,84
13o	58,8	-5,o	2,32	6,84
15o	62,2	-1,6	2,32	6,84
17o	67,4	3,6	2,32	6,84
19o	68,8	5,o	2,32	6,84

Tabelle 1o (Versuchsreihe 5)

Farbstoff-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	49,o	-	-	-
3o	47,8	-1,2	o,99	2,92
5o	49,4	o,4	o,99	2,92
7o	51,4	2,4	o,99	2,92
9o	52,4	3,4	o,99	2,92
11o	5o,6	1,6	o,99	2,92
13o	51,2	2,2	o,99	2,92
15o	51,2	2,2	o,99	2,92
17o	51,6	2,6	o,99	2,92
19o	51,2	2,2	o,99	2,92

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Zeit	$\bar{x}$	$\bar{a}$	$s_{\bar{a}}$	$d_{\bar{a}}$
L	6o,6	-	-	-
3o	59,2	-1,4	1,61	4,75
5o	59,4	-1,2	1,61	4,75
7o	59,8	-o,8	1,61	4,75
9o	63,o	2,4	1,61	4,75
11o	62,o	1,4	1,61	4,75
13o	63,o	2,4	1,61	4,75
15o	62,2	1,6	1,61	4,75
17o	62,2	1,6	1,61	4,75
19o	63,o	2,4	1,61	4,75

Tabelle 11

Mittelwerte der mittleren Abweichungen ($\bar{a}$) von 3o-19o Min.in mm^2

	Dosierung von Oxyphenbutazon in mg/Versuchsperson				
	15oo mg	75o mg	5oo mg	375 mg	Placebo
F	- 2,93	- 2,66	o,2o	-3,71	1,75
FH	-17,15	-1o,55	-8,62	-2,24	o,93

Tabelle 12

Dosis des Oxyphenbutazon pro Versuchsperson	t_{max}	H_{max}
Placebo	-	-
375 mg	89 Min.	- 5,9 mm^2
5oo mg	91 Min.	-13,2 mm^2
75o mg	92 Min.	-17,2 mm^2
15oo mg	93 Min.	-24,6 mm^2

Tabelle 13

Approximationswerte

F Dpsis Oxyphenbutazon pro Versuchsperson

Zeit	Placebo	375 mg	5oo mg	75o mg	15oo mg
3o	-o,65	-2,73	o,2o	-1,76	-1,61
5o	o,54	-3,o6	-o,33	-3,86	-3,85
7o	1,47	-3,35	-o,63	-5,16	-5,27
9o	2,15	-3,61	-o,7o	-5,65	-5,87
11o	2,59	-3,83	-o,55	-5,35	-5,66
13o	2,77	-4,o2	-o,17	-4,23	-4,62
15o	2,71	-4,17	o,43	-2,32	-2,78
17o	2,4o	-4,28	1,25	o,4o	-o,11
19o	1,83	-4,35	2,3o	3,92	3,37

FH

Zeit	Placebo	375 mg	5oo mg	75o mg	15oo mg
3o	-1,82	-1,72	- 7,67	- 8,74	-14,54
5o	-o,7o	-4,o4	-1o,7o	-13,32	-19,89
7o	o,23	-5,42	-12,54	-16,13	-23,24
9o	o,98	-5,87	-13,18	-17,18	-24,56
11o	1,55	-5,37	-12,62	-16,45	-23,87
13o	1,93	-3,94	-1o,86	-13,96	-21,17
15o	2,13	-1,57	- 7,9o	- 9,69	-16,45
17o	2,14	1,74	- 3,74	- 3,66	- 9,71
19o	1,97	5,99	1,61	4,14	- o,96

Tabelle 14 (Versuchsreihe 1)

1.Reine Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	352,13	88,03	4,15	1,0%
Zwischen Zeiten	8	476,4o	59,55	2,81	5,0%
Rest-Varianz	32	678,27	21,2o		
Gesamt-Varianz	44	15o6,8o	34,25		

2.Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	6o67,69	1516,92	33,84	o,1%
Zwischen Zeiten	8	2571,61	321,44	7,17	o,1%
Lineare Komponente	1	863,6o	863,6o	19,26	o,1%
Quadr.Komponente	1	1563,42	1563,42	34,87	o,1%
Rest-Abweichung	6	144,49	24,08		
Rest-Varianz	32	1434,71	44,83		
Gesamt-Varianz	44	1oo73,91	228,95		

3.Vergleich zwischen Quaddel-Typen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	4233,o7	1o58,27	44,6o	o,1%
Zwischen Zeiten	8	212o,82	265,1o	11,17	o,1%
Zwischen Quaddel-Typen	1	3979,91	3979,91	1oo,oo	o,1%
Probanden xZeiten	32	1353,73	42,3o	1,78	-
Probanden xTypen	4	2186,75	546,69	23,o4	o,1%
Typen xZeiten	8	927,o9	115,89	4,88	o,1%
Rest-Varianz	32	759,25	23,73		
Gesamt-Varianz	89	1556o,62	174,84		

Tabelle 15 (Versuchsreihe 2)

1.Reine Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	425,11	1o6,28	7,23	o,1%
Zwischen Zeiten	8	438,4o	54,8o	3,73	1,o%
Rest-Varianz	32	47o,49	14,7o		
Gesamt-Varianz	44	1334,oo	3o,32		

2.Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	3599,33	899,83	18,96	o,1%
Zwischen Zeiten	8	2129,51	266,19	5,61	o,1%
Lineare Komponente	1	777,63	777,63	16,39	o,1%
Quadr.Komponente	1	12o3,98	12o3,98	25,37	o,1%
Rest-Abweichung	6	147,9o	24,65		
Rest-Varianz	32	1518,27	47,45		
Gesamt-Varianz	44	7247,11	164,71		

3.Vergleich zwischen Quaddel-Typen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	2228,6o	557,15	26,95	o,1%
Zwischen Zeiten	8	21o7,16	263,4o	12,74	o,1%
Zwischen Quaddel -Typ.	1	132o,54	132o,54	63,89	o,1%
Probanden xZeiten	32	1327,4o	41,48	2,o1	5,o%
Probanden xTypen	4	1795,85	448,96	21,72	o,1%
Typen xZeiten	8	46o,76	57,6o	2,79	5,o%
Rest-Varianz	32	661,35	2o,67		
Gesamt-Varianz	89	99o1,66	111,25		

Tabelle 16 (Versuchsreihe 3)

1.Reine Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	45,87	11,47	1,49	-
Zwischen Zeiten	8	79,2o	9,9o	1,29	-
Rest-Varianz	32	246,13	7,69		
Gesamt-Varianz	44	371,2o	8,44		

2.Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	226,8o	56,7o	3,15	5,o%
Zwischen Zeiten	8	1o54,18	131,77	7,32	o,1%
Lineare Komponente	1	4o3,68	4o3,68	22,44	o,1%
Quadr.Komponente	1	552,8o	552,8o	3o,73	o,1%
Rest-Abweichung	6	97,7o	16,28		
Rest-Varianz	32	575,6o	17,99		
Gesamt-Varianz	44	1856,58	42,2o		

3.Vergleich zwischen Quaddel-Typen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	48,82	12,21	1,2o	-
Zwischen Zeiten	8	777,49	91,19	9,58	o,1%
Zwischen Quaddel-Typ.	1	1751,21	1751,21	1oo,oo	o,1%
Probanden xZeiten	32	497,18	15,54	1,53	-
Probanden xTypen	4	223,85	55,96	5,52	1,o%
Typen xZeiten	8	355,89	44,49	4,39	1,o%
Rest-Varianz	32	324,55	1o,14		
Gesamt-Varianz	89	3978,99	44,71		

Tabelle 17 (Versuchsreihe 4)

1.Reine Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	382,8o	95,7o	1o,o7	o,1%
Zwischen Zeiten	8	144,44	18,o6	1,9o	-
Rest-Varianz	32	3o4,oo	9,5o		
Gesamt Varianz	44	831,24	18,89		

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	778,76	194,69	7,25	o,1%
Zwischen Zeiten	8	7o4,31	88,o4	3,28	1,o%
Lineare Komponente	1	278,4o	278,4o	1o,37	1,1%
Quadr.Komponente	1	338,81	338,81	12,62	1,o%
Rest-Abweichung	6	87,1o	14,52		
Rest-Varianz	32	859,24	26,85		
Gesamt-Varianz	44	2342,31	53,23		

3.Vergleich zwischen Quaddel-Typen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	1oo8,29	252,o7	15,o7	o,1%
Zwischen Zeiten	8	394,76	49,35	2,95	5,o%
Zwischen Quaddel-Typ.	1	48,4o	48,4o	2,89	-
Probanden xZeiten	32	627,91	19,62	1,17	-
Probanden xTypen	4	153,27	38,32	2,29	-
Typen xZeiten	8	454,oo	56,75	3,39	1,o%
Rest-Varianz	32	535,33	16,73		
Gesamt-Varianz	89	3221,96	36,2o		

Tabelle 18 (Versuchsreihe 5)

1.Reine Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	115,64	28,91	5,88	1,0%
Zwischen Zeiten	8	75,11	9,38	1,91	-
Rest-Varianz	32	157,56	4,92		
Gesamt-Varianz	44	348,31	7,92		

2.Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	112,58	28,15	2,17	-
Zwischen Zeiten	8	1o2,8o	12,85	-	-
Lineare Komponente	1	67,21	67,21	5,18	5,o%
Quadr.Komponente	1	13,o9	13,o9	1,o1	-
Rest-Abweichung	6	22,5o	3,75		
Rest-Varianz	32	415,42	12,98		
Gesamt-Varianz	44	63o,8o	14,34		

3. Vergleich zwischen Quaddel-Typen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F_{emp}	p
Zwischen Probanden	4	188,82	47,21	6,9o	o,1%
Zwischen Zeiten	8	154,82	19,35	2,83	5,o%
Zwischen Quaddel-Typ.	1	15,21	15,21	2,22	-
Probanden xZeiten	32	354,18	11,o7	1,62	-
Probanden xTypen	4	39,4o	9,85	1,44	-
Typen xZeiten	8	23,o9	2,89		
Rest-Varianz	32	218,8o	6,84		
Gesamt-Varianz	89	994,32	11,17		

Abbildung 1 (Versuchsreihe 1)

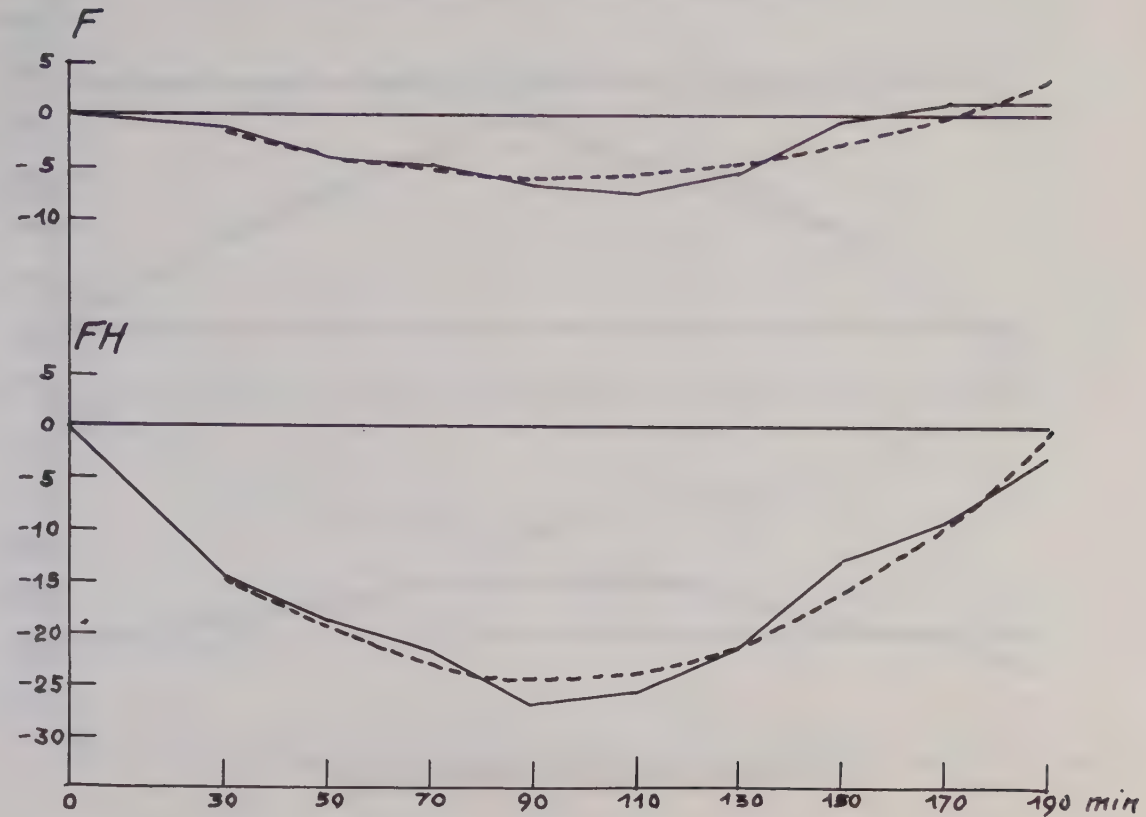


Abbildung 2 (Versuchsreihe 2)

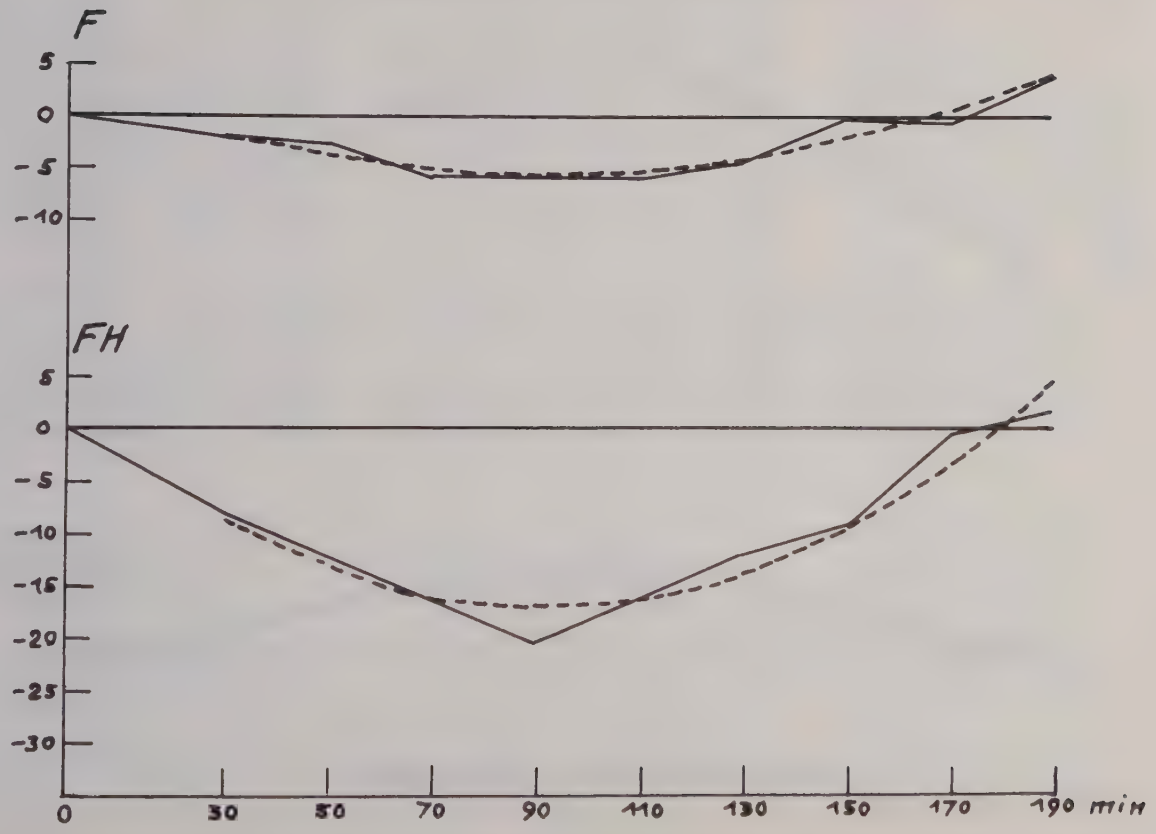


Abbildung 3 (Versuchsreihe 3)

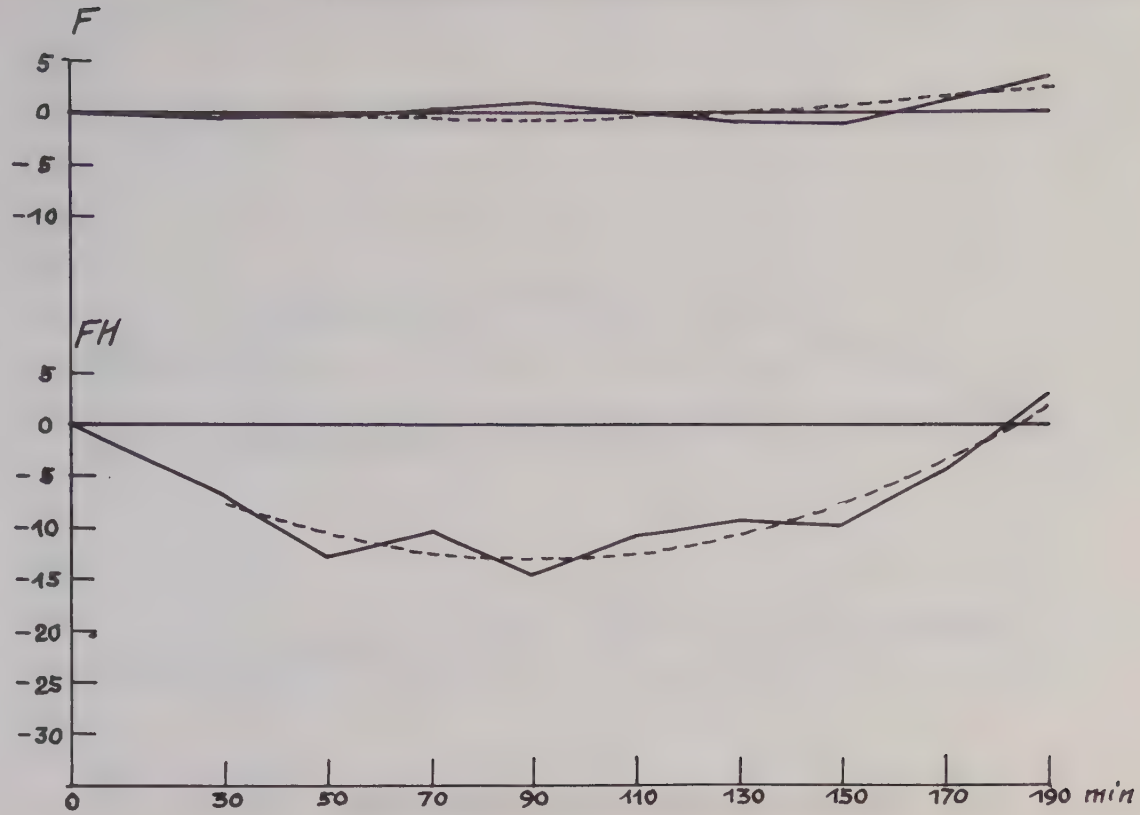


Abbildung 4 (Versuchsreihe 4)

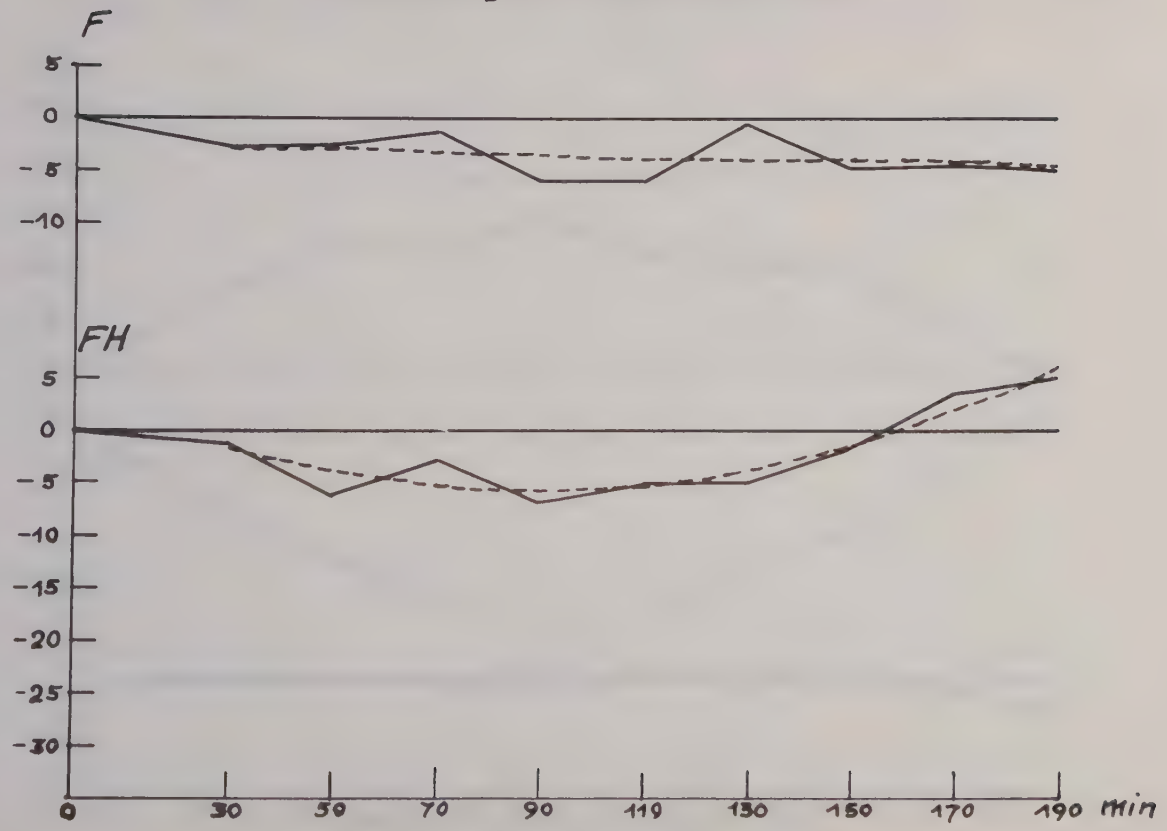


Abbildung 5 (Versuchsreihe 5)

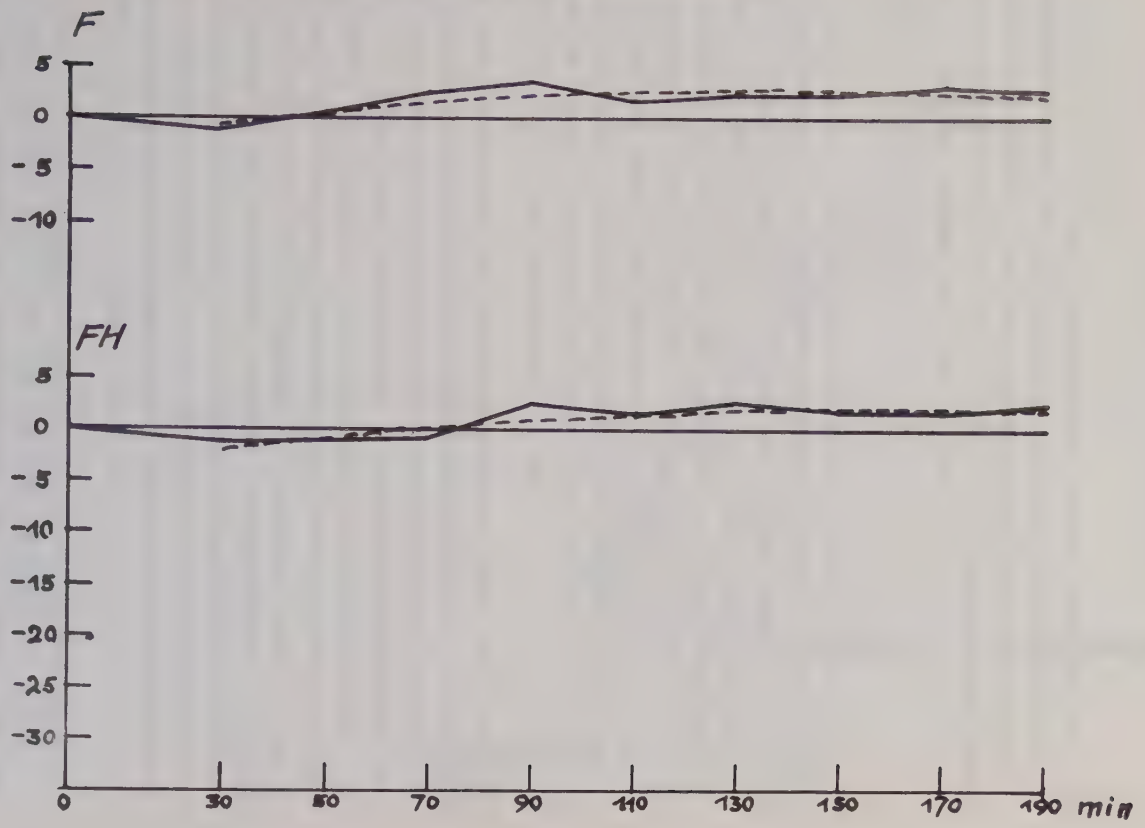
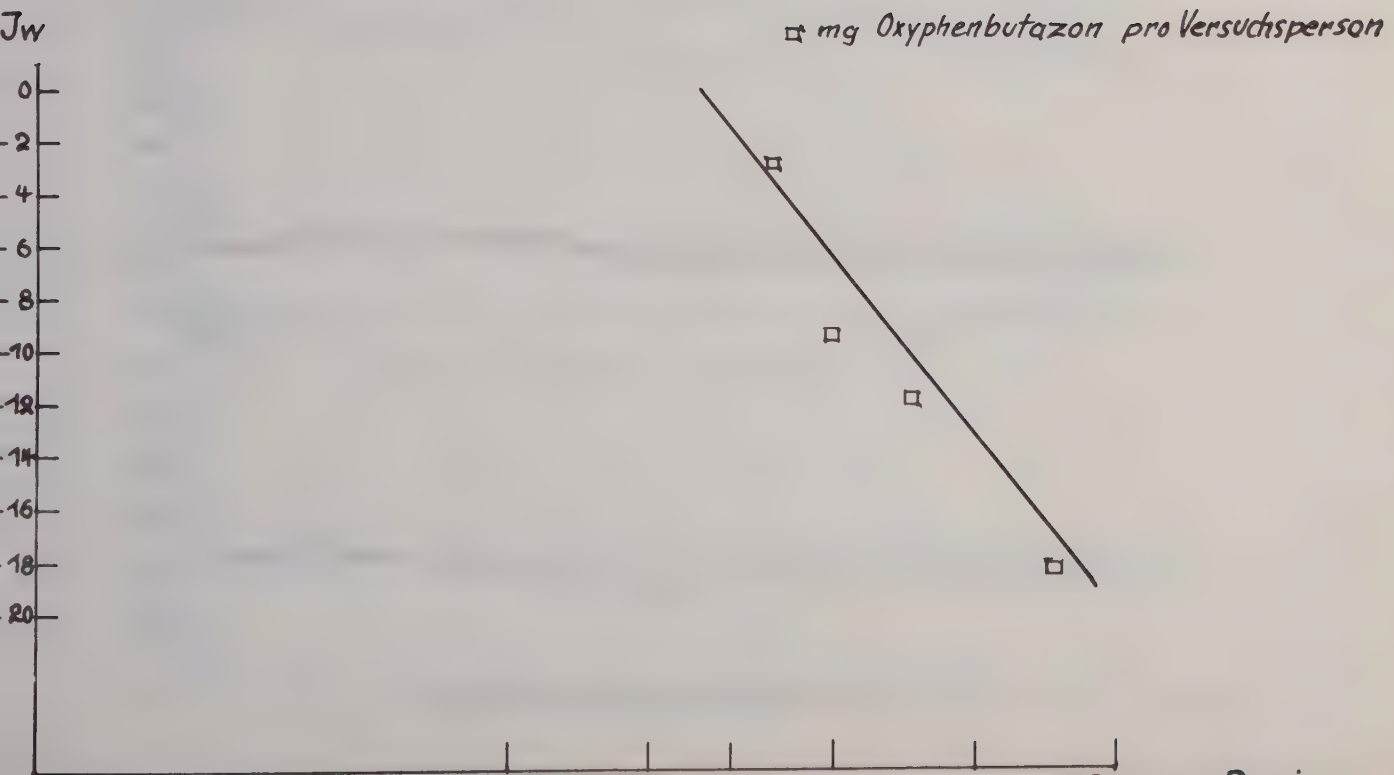


Abbildung 6


Jw
mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
-16
-18
-20

Diskussion der Ergebnisse

Anhand der auf Seite 9 beschriebenen Methodik und Versuchsanordnung wurden Untersuchungen mit einer 5%igen Tanderil®-Crème durchgeführt, um das Oxyphenbutazon auf seine Hautresorption beim Menschen hin zu prüfen. Das Oxyphenbutazon wurde in den Dosierungen von 1500 mg, 750 mg, 500 mg und 375 mg pro Versuchsperson appliziert.

Die statistisch verifizierten Ergebnisse dieser Versuche lassen erkennen, daß das Oxyphenbutazon in allen Dosierungen die Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test hemmt. Es wird damit prinzipiell seine percutane Resorption bewiesen. Ein möglicher lokaler Einfluß auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading durch intracutane Ausbreitung der Wirksubstanz kann bei der räumlichen Differenz zwischen Applikationsort und Meß-Stelle ausgeschlossen werden. Es handelt sich folglich um einen Allgemeineffekt, der für die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität verantwortlich ist.

Bei der Betrachtung der Versuchsergebnisse fällt auf, daß die Maximalwerte der Hyaluronidasehemmung in allen Dosierungen zum gleichen Zeitpunkt 90 Min. post applicationem auftreten und die Größe dieser Maximalwerte eindeutig dosisabhängig ist. Sie nimmt mit steigender Dosierung zu; bei 375 mg, 500 mg, 750 mg und 1500 mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson beträgt die maximale Hyaluronidasehemmung entsprechend 10,6%, 21,6%, 25,5% und 36,3%. Durch die in Tabelle 11 angegebenen, analogen Approximationswerte wird dieses synchrone Auftreten der maximalen Hemmwerte 90 Min. p.a. bestätigt, und der Verlauf der Geraden in Abbildung 6 demonstriert deutlich die Dosisabhängigkeit der beobachteten Hemmwirkungen.

Dieses charakteristische Verhalten der Hyaluronidaseaktivität läßt den Schluß zu, daß die ins Blut resorbierte Wirkstoffmenge innerhalb des Dosisbereichs von 375 mg bis 1500 mg

mit steigender Dosierung zunimmt.

Der Kontrollversuch mit 3o g der Placebo-Crème zeigte keine statistisch signifikante Beeinflussung der Hyaluronidaseaktivität; er objektiviert damit die Hemmwirkung der Oxyphenbutazon-Crème. Er sichert die Wirkung der Versuchssubstanz selbst gegenüber Einflüssen der Versuchsmanipulation und gibt Aufschluß über die Fehlerbreite der Versuchsmethodik.

Es ist bemerkenswert, daß nach Applikation der Dosierungen von 15oo mg und 75o mg Oxyphenbutazon pro Versuchsperson eine statistisch signifikante Hemmung des Spreadings der reinen Farbstoff-Quaddel ohne Hyaluronidasezusatz auftritt. Ein solches Verhalten dieses Quaddel-Typs wurde bereits in früheren Untersuchungen (8,11,12) beobachtet. Es wird als Einwirkung der Versuchssubstanz auf die Gewebshyaluronidase oder als hyaluronidaseunabhängiger permabilitätshemmender Effekt interpretiert.

Aus den Versuchen von B r u s i s (12) über die percutane Resorption von Butazolidin-Salben beim Menschen geht hervor, daß das Phenylbutazon in einer Dosierung von 15oo mg pro Versuchsperson (Applikation von 3o g einer 5%igen Butazolidin-Salbe vom Typ Öl-in-Wasser-Emulsions-Salbengrundlage) zum Zeitpunkt 9o Min. p.a. eine maximale Hyaluronidasehemmung von 34,8% zeigt. Im Vergleich dazu läßt sich aus den Ergebnissen der Versuchsreihe 1 ersehen, daß die maximale Hyaluronidasehemmung des Oxyphenbutazons zum selben Zeitpunkt bei gleicher Dosierung und Applikationsart 36,3% beträgt. Ein exakt quantitativer Vergleich zwischen beiden Substanzen bezüglich der maximalen Hyaluronidasehemmung ist allerdings wegen der unterschiedlichen Größe der entsprechenden Leer-Quaddeln nicht möglich. Man kann aber annehmen, daß unter Berücksichtigung der Dosierung von 15oo mg, der Applikationsart und des Zeitpunktes 9o Min. p.a. als Kriterien, die für beide Substanzen die gleichen sind, Phenylbutazon und Oxy-

phenbutazon im Maximum ihrer Hyaluronidasehemmung etwa gleichwertig sind. Aus dieser Wirkungsäquivalenz kann jedoch nicht auf eine gleichwertige percutane Resorption beider Substanzen geschlossen werden, da nicht auszusagen ist, wieviel mg Phenylbutazon bzw. Oxyphenbutazon zur Erzielung des gleichen Effekts resorbiert werden müssen.

Es ist verständlich, daß eine für die Hyaluronidasehemmung erforderliche Allgemeinwirkung bei cutaner Applikation nur durch relativ hohe Dosen der Oxyphenbutazon-Crème erreicht wird. Wieviel der resorbierten Wirksubstanz nicht in den Blutkreislauf gelangt, sondern unter den Auftragungsstellen im Gewebe liegen bleibt und dort eventuell therapeutisch wirksam werden kann, ist jedoch nicht auszusagen. Man darf aber darauf schließen, daß lokale Wirkungen schon mit entsprechend niedrigeren Dosierungen entfaltet werden können.

Zusammenfassung

In den Untersuchungen dieser Arbeit wurde die percutane Resorption des Oxyphenbutazons, appliziert in Form einer 5%igen Tanderil®-Crème, am Menschen nachgewiesen. Der Nachweis erfolgte durch Bestimmung der Hyaluronidasehemmung im Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Test.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die ins Blut resorbierte Menge an Oxyphenbutazon innerhalb des Dosisbereichs von 375 mg bis 1500 mg mit steigender Dosierung zunimmt. Bei der räumlichen Differenz zwischen Applikationsort und Meß-Stelle kann eine Allgemeinwirkung des cutan applizierten Oxyphenbutazons angenommen werden; sie beweist die erfolgte Resorption der Wirksubstanz durch die Haut.

Literaturverzeichnis

1) Mathies,H.: Neuere Untersuchungen zur Wirkungsweise der Hyaluronidasehemmung durch Antirheumatica.
Verh.Dtsch.Ges.f.Inn.Medizin,65,Kongreß 1959

2) Mathies,H.: Tierexperiment.Untersuchungen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung der Antirheumatica.
Zeitschr.f.Rheumaforschg.18,2o5 (1959)

3) Mathies,H., Biechele,I., Hartmann,M.: Untersuchungen zum Mechanismus der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Phenylbutazons (Butazolidins)
Ärztl.Forschg. 14:I/16o (196o)

4) Mathies,H.: Über den Mechanismus der hyaluronidasehemmenden Wirkung der Glucocorticoide.
Zeitschr.ges.exper.Med. 131,118 (1959)

5) Mathies,H., Glück,A.,Poulantzas,J. und Schmidt,D.: Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Ergotamintartrat.
Med.exper. 1,64 (1959)

6) Mathies,H., Vogel,M.: Untersuchungen am Menschen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung des Phenylbutazons und deren Blockierung durch Adrenolytica, Antihistaminica und heparininaktivierende Substanzen.
Zeitschr.ges.exp.Med. 133,32 (196o)

7) Mathies,H.und Jankowski,A.: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Nebennierenmarks für die Hyaluronidasehemmung.
Klin.Wochenschr. 35,892 (1957)

8) Arnold,I.: Zusammenfassende Betrachtung der experimentellen Grundlagen zum Problem der Wirkungsweise hyaluronidasehemmender Substanzen.
Diss.München 1965

9) Mathies,H.und Gabler,W.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur percutanen Wirksamkeit eines Nebennierenextraktes, eines Heparinkörpers und der Salicylsäure in Salbenform.
Med.Klin.58o,18 (1963)

1o) Mathies,H. und Lutz,D.: Zur hyaluronidasehemmenden Wirksamkeit von Salicylsäure und Huminsäuren bei Applikation durch Bäder.
Arzneim.Forschg. 1o,689 (196o)

11) Mathies,H.: Zur Resorption von Phenylbutazon-Salbe durch die Haut von Ratten und Menschen.
Arzneim.Forschg. 13,8o5 (1963)

12) Brusis,E.: Nachweis der Hautresorption von Butazolidin-Salben beim Menschen.
Diss.München 1964

13) Pfister,R.und Häfliger,R.: Über die Derivate des Phenylbutazons.
Helv.chim.Acta 4o:395 (1957)

14) Burns,Rose, Goodwin,Reichenthal,Hornung and Brodie: The metabolic fate of phenylbutazone (Butazolidin) in man.J.Pharm.exp.The. 1 13:481 (1955) zit.nach Mathies,H.: Med.exp. 6;88 (1962)

15) Herrmann,B.: Über den Stoffwechsel des Butazolidins.
Med.experim. 1,17o (1959)

16) Wunderly,Ch.: Die Bindung des Antiphlogisticum p-Hydroxyphenylbutazon an die Serumproteine.
Arzneim.Forschg. 1o:91o (196o)

17) Wilhelmi,G.: Die pharmakologischen Eigenschaften der Metaboliten von 1,2 Diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butylpyrazolidin
Arneim.Forschg. 1o:129 (196o)

18) Harwerth,W.: Erfahrungen mit Pyrazolonabkömmlingen in der Therapie rheumatischer Krankheitsbilder.
Ärztl. Fortbildg. 9:481 (1959)

19) Barcyk,W.und Röth,G.: Klinische Erfahrungen mit dem Antiphlogisticum G 272o2,
Praxis 49:589 (196o)

2o) Scholze,H.: Untersuchungen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung von Metaboliten des Phenylbutazons.
Diss.München 196o

21) Mathies,H.und Scholze,H.: Untersuchungen zur Beeinflussung des Hyaluronidase-Spreadings durch Derivate des Phenylbutazons.
Arzneim.Forschg. 12,79 (1962)

22) Mathies,H.: Untersuchungen zur hemmenden Wirkung des Oxyphenbutazons auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading.
Med.experimen. 6:88 (1962)

23) Fisher,R.A.and Yates,F.: Statistical Tables for Biological,Agricultural and Medical Research.
Verlag Oliver and Boyd, Edinburgh (1957)

24) Tukey,W.: zitiert nach Scheffé,H.: The Analysis of Variance.
John Wiley and Sons, Jnc.New York (1959)

Herrn Priv.Doz. Dr. H. M a t h i e s danke ich für die Überlassung des Themas und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit, Herrn Prof.Dr. W. S e i t z für die Möglichkeit, an seiner Klinik die Untersuchungen durchführen zu können. Herrn Dipl.Math. K. L i e b r i c h bin ich für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse dankbar.

Lebenslauf

Am 4.Juli 1941 wurde ich als erster Sohn des Meteorologen Dr.phil.nat. Adolf Schneider und seiner Ehefrau Monika, geb.Schäfer, in München geboren. Hier besuchte ich von 1947-1951 die Volksschule. Im Jahre 1951 trat ich in das Humanistische Wilhelmsgymnasium in München ein, wo ich im Juli 1960 das Abitur bestand. Im Wintersemester 1960/61 begann ich an der Universität Frankfurt/Main das Medizinstudium. Nach 2 Semestern legte ich dort das Vorphysikum ab. Im Wintersemester 1961/62 setzte ich das Studium an der Universität München fort, wo ich im Sommer 1963 das Physikum bestand. Während des klinischen Studiums blieb ich in München. Eine zweimonatige Auslandsfamulatur führte mich 1965 nach Südfrankreich. Im Frühjahr 1965 begann ich an der Medizinischen Poliklinik der Universität München meine Dissertationsarbeit. Im August 1967 bestand ich vor dem Ausschuß für ärztliche Prüfungen in München erfolgreich das medizinische Staatsexamen.